

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 08 June 2001 (08.06.01)	Applicant's or agent's file reference WO-2559
International application No. PCT/EP00/09569	Priority date (day/month/year) 01 October 1999 (01.10.99)
International filing date (day/month/year) 29 September 2000 (29.09.00)	
Applicant HEIMBERG, Wolfgang et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

15 March 2001 (15.03.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Olivia TEFY

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
12. April 2001 (12.04.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/24930 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: B01L 3/00, 7/00

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): MWG-BIOTECH AG [DE/DE]; Anzinger Strasse 7,
85560 Ebersberg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/09569

(22) Internationales Anmeldedatum:
29. September 2000 (29.09.2000)

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HEIMBERG, Wolfgang [DE/DE]; Böhmerwaldstrasse 72, 85560 Ebersberg (DE). SCHÜRE, Markus [DE/DE]; Bergstrasse 31, 83313 Siegsdorf (DE). HERRMANN, Thomas [DE/DE]; Putzbrunnerstr. 40a, 85521 Ottobrunn (DE). KNÜLLE, Matthias [DE/DE]; Dietrich Bonhoeffer Str. 4, 85567 Grafing (DE). WAGNER, Tilmann [DE/DE]; Am Seeschneidfeld 1, 85567 Grafing (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

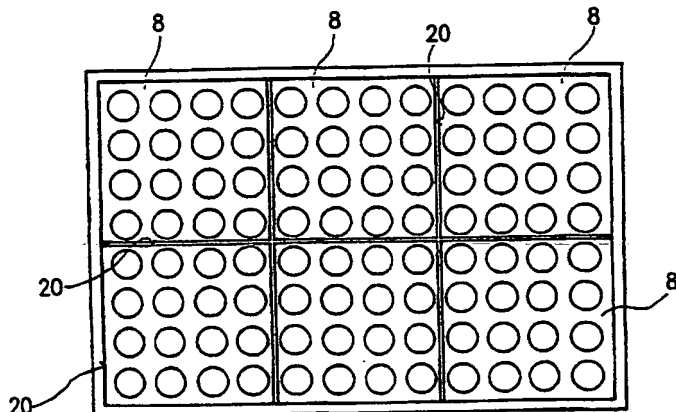
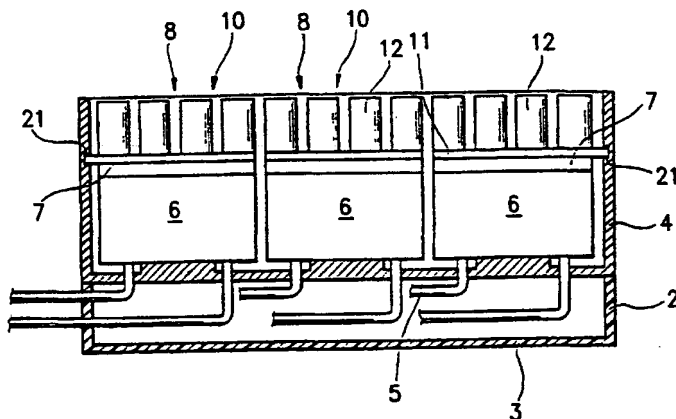
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
299 17 313.5 1. Oktober 1999 (01.10.1999) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DEVICE FOR CARRYING OUT CHEMICAL OR BIOLOGICAL REACTIONS

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR DURCHFÜHRUNG CHEMISCHER ODER BIOLOGISCHER REAKTIONEN



(57) Abstract: The invention relates to a device for carrying out chemical or biological reactions. Said device comprises a reaction vessel-receiving element for receiving a microtiter plate with a plurality of reaction vessels. The reaction vessel-receiving element is provided with a plurality of recesses that are arranged in a regular pattern and that receive the corresponding reaction vessels. The inventive device further comprises a heating element for heating the reaction vessel-receiving unit and a cooling element for cooling the reaction vessel-receiving unit. The inventive device is characterized in that the reaction vessel-receiving element is subdivided into several segments. The individual segments are thermally decoupled from one another. Every segment is provided with a heating element that is controlled independent of the other heating elements.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Durchführung chemischer oder biologischer Reaktionen, mit einem Reaktionsgefäßaufnahmekörper zum Aufnehmen einer Mikrotiterplatte mit mehreren Reaktionsgefäßen, wobei der Reaktionsgefäßaufnahmekörper mehrere in einem regelmäßigen Raster angeordnete Ausnehmungen zur Aufnahme der jeweiligen Reaktionsgefäße aufweist, einer Heizeinrichtung zum Erhitzen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers und einer Kühleinrichtung zum Kühlen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers. Die Erfindung zeichnet sich dadurch aus, dass der Reaktionsgefäßaufnahmekörper in mehrere Segmente unterteilt ist. Die einzelnen Segmente sind thermisch

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 01/24930 A1



(74) **Anwalt:** GANAHL, Bernhard; Hausen 5b, 85551 Kirchheim bei München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),

europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

5

Vorrichtung zur Durchführung chemischer oder biologischer Reaktionen

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Durchführung chemischer
10 oder biologischer Reaktionen, mit
einem Reaktionsgefäßaufnahmekörper zum Aufnahmen von Reaktionsgefäßen,
wobei der Reaktionsgefäßaufnahmekörper mehrere in einem regelmäßigen Raster
angeordnete Ausnehmungen zur Aufnahme von Reaktionsgefäßen aufweist,
einer Heizeinrichtung zum Erhitzen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers, und
15 einer Kühleinrichtung zum Kühlen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers.

Diese Vorrichtungen werden als Thermocycler bzw. Thermocyclervorrichtungen
bezeichnet und dienen zum Erzeugen von bestimmten Temperaturzyklen, d.h.,
dass in den Reaktionsgefäßen vorbestimmte Temperaturen eingestellt und vorbe-
20 stimmte Zeitintervalle gehalten werden.

Eine derartige Vorrichtung ist aus der US 5,525,300 bekannt. Diese Vorrichtung
weist vier Reaktionsgefäßaufnahmekörper auf, die jeweils mit in einem regelmäßi-
gen Raster angeordneten Ausnehmungen ausgebildet sind. Das Raster der Aus-
25 nehmungen entspricht einem von standardisierten Mikrotiterplatten bekannten
Raster von Reaktionsgefäßen, so dass Mikrotiterplatten mit ihren Reaktionsgefä-
ßen in die Ausnehmungen eingesetzt werden können.

Die Heiz- und Kühleinrichtungen eines der Reaktionsgefäßaufnahmekörper sind
30 derart ausgebildet, dass eine sich über den Reaktionsgefäßaufnahmekörper
erstreckender Temperaturgradient erzeugt werden kann. Dies bedeutet, dass wäh-
rend eines Temperaturzyklusses in den einzelnen Reaktionsgefäßen unterschied-

liche Temperaturen erzielt werden können. Hierdurch ist es möglich, bestimmte Experimente gleichzeitig mit unterschiedlichen Temperaturen auszuführen.

5 Dieser Temperaturgradient wird zum Ermitteln der optimalen Denaturierungstemperatur, der optimalen Annealingtemperatur und der optimalen Elongationstemperatur einer PCR-Reaktion verwendet. Hierzu wird in den einzelnen Reaktionsgefä-
10 ßen das gleiche Reaktionsgemisch eingebracht und dann die zum Durchführen der PCR-Reaktion notwendigen Temperaturzyklen ausgeführt. Ein solcher Temperaturzyklus umfaßt das Erhitzen der Reaktionsgemische auf die Denaturierungstemperatur, die üblicherweise im Bereich von 90°-95°C liegt, das Abkühlen auf die
15 Annealingtemperatur, die üblicherweise im Bereich von 40°-60°C liegt, und das Erhitzen auf die Elongationstemperatur, die üblicherweise im Bereich von 70°-75°C liegt. Ein solcher Zyklus wird mehrere Male wiederholt, wodurch eine vorbestimmte DNA-Sequenz amplifiziert wird.

15 Da ein Temperaturgradient eingestellt werden kann, werden in den einzelnen Reaktionsgefäßen unterschiedliche aber vorbestimmte Temperaturen eingestellt. Nach Abarbeitung der Zyklen kann anhand der Reaktionsprodukte der einzelnen Reaktionsgefäße festgestellt werden, bei welchen Temperaturen die PCR-
20 Reaktion das für den Anwender optimale Ergebnis liefert. Das Ergebnis kann hierbei z.B. hinsichtlich der Produktmenge als auch der Produktqualität optimiert werden.

25 Die Annealingtemperatur, bei der die Primer angelagert werden, hat einen starken Einfluß auf das Ergebnis. Aber auch die Elongationstemperatur kann sich vor- bzw. nachteilhaft auf das Ergebnis auswirken. Bei einer höheren Elongationstemperatur wird die Anlagerung der Basen beschleunigt, wobei die Wahrscheinlichkeit von Fehlern mit höherer Temperatur steigt. Zudem ist bei einer höheren Elongationstemperatur die Lebensdauer der Polymerase kürzer.

30 Eine Thermocyclervorrichtung, bei der ein Temperaturgradient eingestellt werden kann, stellt eine erhebliche Erleichterung bei der Ermittlung der gewünschten Temperaturen dar, da ein Reaktionsgemisch in einer einzigen Thermocyclervor-

richtung gleichzeitig Zyklen mit unterschiedlichen Temperaturen unterzogen werden kann.

Ein weiterer wesentlicher Parameter für den Erfolg einer PCR-Reaktion ist die
5 Verweildauer bei den einzelnen Temperaturen für die Denaturierung, das Annealing und der Elongation und die Änderungsrate der Temperatur. Diese Parameter können bei der bekannten Vorrichtung nicht in einer Versuchsreihe an einem einzigen Reaktionsgefäßhalter variiert werden. Will man unterschiedliche Verweildauern und Änderungsraten testen, kann man dies in mehreren Versuchsreihen entweder in einer Thermocyclervorrichtung nacheinander oder in mehreren Thermo-
10 cyclervorrichtungen gleichzeitig ausführen.

Hierzu gibt es sogenannte Multiblock-Thermocyclervorrichtungen mit mehreren Reaktionsgefäßaufnahmekörpern, die jeweils mit separaten Kühl-, Heiz- und Steuereinrichtungen versehen sind (siehe US 5,525,300). Das zu testende Reaktionsgemisch muß auf mehrere Mikrotiterplatten verteilt werden, um dann unabhängig voneinander getestet zu werden.

Für die Ermittlung der optimalen Verweildauern und Temperaturänderungsraten
20 benötigt man entweder mehrere Thermocyclervorrichtungen oder eine Multiblock-Thermocyclervorrichtung, oder man muß nacheinander in mehreren Versuchsreihen testen. Die Anschaffung mehrerer Thermocyclervorrichtungen oder einer Multiblock-Thermocyclervorrichtung ist teuer und das Durchführen mehrerer aufeinanderfolgender Versuchsreihen dauert lange. Zudem ist die Handhabung aufwendig,
25 wenn nur ein Teil der Reaktionsgefäße mehrerer Mikrotiterplatten gefüllt wird und diese jeweils in einer eigenen Versuchsreihe getestet bzw. optimiert werden. Dies ist insbesondere bei automatisch arbeitenden Vorrichtungen nachteilig, in welchen die Reaktionsgemische weiteren Arbeitsvorgängen unterzogen werden, da dann mehrere Mikrotiterplatten separat gehandhabt werden müssen. Zudem ist es äußerst
30 unpraktisch, wenn nur ein Teil der Reaktionsgefäße der Mikrotiterplatten gefüllt sind, denn die Geräte zur Weiterverarbeitung, wie z.B. Probenkämme zum Übertragen der Reaktionsprodukte auf eine Elektrophoresevorrichtung, sind oftmals auf das Raster der Mikrotiterplatten ausgelegt, weshalb eine Weiterverarbei-

tung entsprechend beschränkt ist, wenn nur ein Teil der Reaktionsgefäße der Mikrotiterplatte benutzt werden.

5 Aus der US 5,819,842 geht eine Vorrichtung zum individuellen, kontrollierten Beheizen mehrerer Proben hervor. Diese Vorrichtung weist mehrere flächig ausgebildete Heizelemente auf, die rasterartig an einer Arbeitsoberfläche angeordnet sind. Unterhalb der Heizelemente ist eine Kühleinrichtung ausgebildet, die sich über alle Heizelemente erstreckt. Im Betrieb wird eine besonders ausgestaltete Probenplatte auf die Arbeitsoberfläche aufgesetzt. Diese Probenplatte weist eine Gitterplatte auf, die an der Unterseite mit einer Folie bespannt ist. In den Ausnehmungen der Gitterplatte werden die Proben eingebracht. Die Proben liegen bei dieser Vorrichtung lediglich durch die Folie getrennt auf den einzelnen Heizelementen auf. Hierdurch wird ein unmittelbarer Wärmeübergang erzielt. Jedoch ist bei dieser Vorrichtung nachteilig, dass keine handelsübliche Mikrotiterplatte verwendet werden kann.

Mit der zunehmenden Automatisierung in der Biotechnologie werden Thermocycler zunehmend in automatisch arbeitenden Fertigungslinien und Robotern als einer von mehreren Arbeitsplätzen eingesetzt. Hierbei ist es üblich, dass die Proben in 20 Mikrotiterplatten gefüllt von einem Arbeitsplatz zum nächsten weitergereicht werden. Würde in einem solchen automatisch arbeitenden Fertigungsprozess die Vorrichtung gemäß der US 5,819,842 eingesetzt werden, so müssten die Proben vor der Temperierung aus einer Mikrotiterplatte in die besonders ausgebildete Probenplatte und nach der Temperierung aus der Probenplatte in eine Mikrotiterplatte 25 pipettiert werden. Hierbei besteht die Gefahr einer Kontamination der Proben. Die Verwendung dieser besonders ausgebildeten Probenplatte muss deshalb als äußerst nachteilig angesehen werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die eingangs genannte Vorrichtung derart weiterzubilden, dass die oben beschriebenen Nachteile vermieden werden und 30 die Parameter des PCR-Verfahrens sehr flexibel optimiert werden können.

Die Erfindung weist zur Lösung dieser Aufgabe die im Anspruch 1 angegebenen Merkmale auf. Vorteilhafte Ausgestaltungen hiervon sind in den weiteren Ansprüchen angegeben.

- 5 Die Erfindung zeichnet sich dadurch aus, dass der Reaktionsgefäßaufnahmekörper in mehrere Segmente unterteilt ist, und die einzelnen Segmente thermisch entkoppelt sind und jedem Segment eine Heizeinrichtung zugeordnet ist, die unabhängig voneinander ansteuerbar sind.
- 10 Hierdurch können die einzelnen Segmente der Vorrichtung voneinander unabhängig auf unterschiedliche Temperaturen eingestellt werden. Dies ermöglicht, dass in den Segmenten nicht nur unterschiedliche Temperatururniveaus eingestellt werden können, sondern diese auch unterschiedlich lange gehalten bzw. mit unterschiedlichen Änderungsraten verändert werden können. Die erfindungsgemäße Vorrichtung
- 15 erlaubt somit eine Optimierung aller für ein PCR-Verfahren kritischen physikalischen Parameter, wobei der Optimierungsvorgang an einem einzigen Reaktionsgefäßaufnahmekörper durchgeführt werden kann, in dem eine Mikrotiterplatte eingesetzt werden kann.
- 20 Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist es deshalb möglich, auch die Verweildauern und die Temperaturänderungsraten zu optimieren, ohne dass hierzu das Reaktionsgemisch auf unterschiedliche Mikrotiterplatten verteilt werden muß.

Die erfindungsgemäße Thermocyclervorrichtung ist insbesondere zum Optimieren

25 des Multiplex-PCR-Verfahrens geeignet, bei welchem mehrere unterschiedliche Primer eingesetzt werden.

Die vorstehende Aufgabe, die Merkmale und Vorteile nach der vorliegenden Erfindung können unter Berücksichtigung der folgenden, detaillierten Beschreibung der bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung und unter Bezug-

30 nahme auf die zugehörigen Zeichnungen besser verstanden werden.

Die Erfindung wird im folgenden anhand der Zeichnungen näher erläutert. Diese zeigen in:

5 Fig.1 einen Schnitt durch eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Durchführen chemischer oder biologischer Reaktionen nach einem ersten Ausführungsbeispiel,

10 Fig. 2 einen Schnitt durch einen Bereich einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Durchführen chemischer oder biologischer Reaktionen nach einem zweiten Ausführungsbeispiel,

Fig. 3 schematisch die Vorrichtung aus Fig. 2 in der Draufsicht,

15 Fig. 4 schematisch eine Vorrichtung nach einem dritten Ausführungsbeispiel in der Draufsicht,

Fig. 5 einen Bereich der Vorrichtung aus Fig. 4 in einer Schnittdarstellung entlang der Linie A-A,

20 Fig. 6 bis 9 schematisch jeweils eine Draufsicht auf Reaktionsgefäßaufnahmekörper mit unterschiedlicher Segmentierung,

Fig. 10 einen Spannrahmen in der Draufsicht,

25 Fig. 11 eine erfindungsgemäße Vorrichtung, bei welcher Segmente eines Reaktionsgefäßaufnahmekörpers mit dem Spannrahmen nach Fig. 10 fixiert sind, und

30 Fig. 12 eine weitere Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung im Schnitt, bei welcher Segmente eines Reaktionsgefäßaufnahmekörpers mit dem Spannrahmen nach Fig. 10 fixiert sind.

In Fig. 1 ist ein erstes Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung 1 zur Durchführung chemischer und/oder biologischer Reaktionen schematisch im Schnitt dargestellt.

5 Die Vorrichtung weist ein Gehäuse 2 mit einer Bodenwandung 3 und Seitenwandungen 4 auf. Ein Stück oberhalb der Bodenwandung 3 ist parallel zur Bodenwandung 3 eine Zwischenwandung 5 angeordnet, auf welcher mehrere Sockel 5a ausgebildet sind. Bei dem in Fig. 1 gezeigten Ausführungsbeispiel sind insgesamt sechs Sockel 5a vorgesehen, die in zwei Reihen á drei Sockel 5a angeordnet sind.

10 Auf den Sockeln 5a ist jeweils ein Wärmetauscher 6, ein Peltierelement 7 und ein Segment 8 eines Reaktionsgefäßaufnahmekörpers 9 angeordnet. Der Wärmetauscher 6 ist Bestandteil einer Kühleinrichtung und das Peltierelement 7 ist Bestandteil einer kombinierten Heiz- und Kühleinrichtung. Die auf den Sockeln 5a
15 angeordneten Elemente (Wärmetauscher, Peltierelement, Segment) sind mit einem gut wärmeleitenden Klebeharz verklebt, wodurch zwischen diesen Elementen ein guter Wärmeübergang realisiert wird, und die Elemente zudem fest zu einem Segmentteil 10 verbunden sind. Die Vorrichtung weist insgesamt sechs derartige Segmentteile 10 auf. Anstelle von Klebeharz kann auch eine Wärmeleitfolie oder
20 eine Wärmeleitpaste vorgesehen werden.

Die Segmente 8 des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers 9 weisen jeweils eine Basisplatte 11 mit einstückig daran ausgebildeten rohrförmigen, dünnwandigen Reaktionsgefäßhaltern 12 auf. Bei dem in Fig. 1 dargestellten Ausführungsbeispiel
25 sind jeweils 4 x 4 Reaktionsgefäßhalter 12 auf einer Basisplatte 11 angeordnet. Der Abstand d zwischen benachbarten Segmenten 8 ist derart bemessen, dass die Reaktionsgefäßhalter 12 aller Segmente 8 in einem regelmäßigen Raster mit konstantem Rasterabstand D angeordnet sind. Der Rasterabstand D ist so gewählt, dass eine standardisierte Mikrotiterplatte mit ihren Reaktionsgefäßen in die
30 Reaktionsgefäßhalter 12 eingesetzt werden kann.

Durch Vorsehen des Abstandes d zwischen benachbarten Segmenten wird ein Luftspalt gebildet, der die Segmente 8 bzw. die Segmentteile 10 thermisch entkoppelt.

- 5 Die Reaktionsgefäßhalter 12 der in Fig. 1 gezeigten Vorrichtung bilden ein Raster mit insgesamt 96 Reaktionsgefäßhaltern die in acht Reihen á zwölf Reaktionsgefäßhalter 12 angeordnet sind.

- 10 Die Peltierelemente 7 sind jeweils an eine erste Steuereinrichtung 13 elektrisch angeschlossen. Die Wärmetauscher 6 sind jeweils über einen separaten Kühlkreislauf 14 mit einer zweiten Steuereinrichtung 15 verbunden. Als Kühlmedium wird bspw. Wasser verwendet, das in der Kühltemperatur-Steuereinrichtung gekühlt wird, bevor es zu einem der Wärmetauscher 6 befördert wird.

- 15 Die erste Steuereinrichtung 13 und die zweite Steuereinrichtung 15 sind an eine zentrale Steuereinrichtung 16 angeschlossen, die die in der Vorrichtung auszuführenden Temperaturzyklen steuert. In jedem Kühlkreislauf 14 ist ein Schaltventil 19 eingebracht, das von der zentralen Steuereinheit 16 zum Öffnen oder Schließen des jeweiligen Kühlkreislaufes 14 gesteuert wird.

- 20 Am Gehäuse 2 ist schwenkbar ein Deckel 17 befestigt, in dem weitere Heizelemente 18 in Form von Peltierelementen, Heizfolien oder Halbleiterheizelementen angeordnet sein können. Die Heizelemente 18 bilden Deckelheizelemente, die jeweils einem Segment 8 zugeordnet und einzeln mit der ersten Steuereinrichtung
25 13 verbunden sind, so dass jedes Heizelement 18 individuell angesteuert werden kann.

Nachfolgend wird die Funktionsweise der erfindungsgemäßen Vorrichtung näher erläutert.

- 30 Es gibt drei Betriebsmodi.

Im ersten Betriebsmodus werden alle Segmente auf die gleiche Temperatur eingestellt, d.h., dass auf allen Segmenten die gleichen Temperaturzyklen abgefahren werden. Dieser Betriebsmodus entspricht dem Betrieb einer herkömmlichen Thermocyclervorrichtung.

5

Im zweiten Betriebsmodus werden die Segmente mit unterschiedlichen Temperaturen angesteuert, wobei die Temperaturen so gesteuert werden, dass die Temperaturdifferenz ΔT benachbarter Segmente 8 kleiner als ein vorbestimmter Wert K ist, der bspw. 5°-15°C beträgt. Der für K zu wählende Wert hängt von der Güte der thermischen Entkopplung ab. Für K kann ein umso höherer Wert gewählt werden, je besser die thermische Entkopplung ist.

10

Die vom Anwender eingegebenen Temperaturzyklen können von der zentralen Steuereinrichtung 16 automatisch auf die Segmente 8 verteilt werden, so dass die Temperaturdifferenzen zwischen benachbarten Segmenten so klein wie möglich gehalten werden.

15

Dieser zweite Betriebsmodus kann mit einer Funktion versehen sein, mit der der Anwender lediglich einen einzigen Temperaturzyklus bzw. PCR-Zyklus eingibt, und die zentrale Steuereinrichtung 16 dann diesen Zyklus automatisch variiert. Die zu variierenden Parameter, wie Temperatur, Verweildauer oder Temperaturänderungsrate, können vom Anwender einzeln oder in Kombination gewählt werden. Die Variation der Parameter erfolgt entweder nach einer linearen oder sigmoiden Verteilung.

20

25

Im dritten Betriebsmodus werden nur ein Teil der Segmente angesteuert. Die Segmente 8 besitzen in der Draufsicht (Fig. 3, Fig. 4, Fig. 6 bis 9) Seitenkanten 20. Bei diesem Betriebsmodus werden die zu einem angesteuerten Segment 8 an dessen Seitenkanten benachbarten Segmente 8 nicht angesteuert. Bilden die Segmente 8 selbst ein regelmäßiges Raster (Fig. 3, Fig. 4, Fig. 6, Fig. 7 und Fig. 8), so sind die angesteuerten Segmente wie in einem Schachbrettmuster verteilt. Bei dem in Fig. 1 bis 4 gezeigten Ausführungsbeispielen können drei der sechs

30

Segmente 8 angesteuert werden, nämlich die zwei äußeren Segmente einer Reihe und das mittlere Segment der anderen Reihe.

5 Bei diesem Betriebsmodus werden die angesteuerten Segmente nicht durch die anderen Segmente beeinflusst, wodurch deren Temperatur vollkommen unabhängig von den weiteren angesteuerten Segmenten eingestellt werden können. Hierdurch ist es möglich, unterschiedlichste Temperaturzyklen auf den einzelnen Segmenten abzufahren, wobei eines der Segmente bspw. auf die Denaturierungstemperatur aufgeheizt und ein anderes auf der Annealingtemperatur gehalten wird. So ist es möglich, die Verweildauern, d.h., die Zeitintervalle während der 10 die Denaturierungstemperatur, Annealingtemperatur und Elongationstemperatur gehalten wird, als auch die Temperaturänderungsraten nach belieben einzustellen und gleichzeitig an den einzelnen Segmenten abzufahren. Hierdurch ist es möglich, nicht nur die Temperaturen, sondern auch die Verweildauern und die Temperaturänderungsraten zu optimieren. 15

Bei diesem Betriebsmodus kann es zweckmäßig sein, die nicht angesteuerten Segmente 8 etwas zu erhitzen, so dass deren Temperatur etwa im Bereich der niedrigsten Temperatur der hierzu benachbarten angesteuerten Segmente liegt. Hierdurch wird vermieden, dass die nicht angesteuerten Segmente eine Wärmesenke für die angesteuerten Segment bilden und deren Temperaturprofil nachteilig beeinflussen. 20

Ein zweites Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist in Fig. 2 und 3 gezeigt. Der grundsätzliche Aufbau entspricht dem aus Fig. 1 weshalb gleiche Teile mit gleichen Bezugszeichen versehen sind. 25

Das zweite Ausführungsbeispiel unterscheidet sich vom ersten Ausführungsbeispiel dadurch, dass die zu den Seitenwandungen 4 des Gehäuses 2 benachbarten Seitenkanten 20 der Segmente 8 in eine an der Innenfläche der Seitenwandungen 4 umlaufenden Nut 21 eingreifen und darin bspw. durch Kleben fixiert sind. Hierdurch sind die einzelnen Segmentteile 10 räumlich fixiert, wodurch sichergestellt ist, dass trotz der Ausbildung der Spalte zwischen den Segmentteilen 10 alle Re- 30

aktionsgefäßhalter 12 im Raster der Reaktionsgefäße einer Mikrotiterplatte angeordnet sind. Die Seitenwandungen 4 des Gehäuses 2 sind aus einem nicht-wärmeleitenden Material ausgebildet. Dieses Ausführungsbeispiel kann auch dahingehend abgewandelt werden, dass die Nut 21 in einem vom Gehäuse 2 separat ausgebildeten Rahmen eingebracht ist. Der Rahmen und die darin eingesteckten Segmente bilden bei der Fertigung ein separat handhabbares Teil, das auf die Heiz- und Kühleinrichtungen aufgeklebt wird.

Ein drittes Ausführungsbeispiel ist schematisch in Fig. 4 und 5 dargestellt. Bei diesem Ausführungsbeispiel sind in den Bereichen zwischen den Segmentteilen 10 und zwischen den Segmentteilen 10 und den Seitenwandungen 4 des Gehäuses 2 Streben 22 aus einem nicht wärmeleitenden Material etwas unterhalb der Basisplatten 11 der Segmente 8 angeordnet. An den Seitenkanten 20 der Segmente 8 bzw. der Basisplatten 11 sind nach unten abgewinkelte Hakenelemente 23 ausgebildet. Diese Hakenelemente 23 greifen in korrespondierende Ausnehmungen der Streben 22 ein (Fig. 5), wodurch die Segmente 8 in ihrer Lage fixiert sind. Die Hakenelemente 23 benachbarter Segmente 8 sind zueinander versetzt angeordnet. Die Streben 22 bilden somit ein Gitter, in dessen Öffnungen jeweils ein Segment 8 eingesetzt werden kann.

Diese Art der Lagefixierung ist sehr vorteilhaft, da die Grenzflächen zwischen den Segmenten 8 und den Streben 22 sehr klein sind, wodurch die Wärmeübertragung über die Streben 22 entsprechend gering ist. Zudem kann diese Anordnung auch bei den beengten Raumverhältnissen zwischen benachbarten Segmentteilen einfach realisiert werden.

In den Fig. 6 bis 9 sind schematisch in der Draufsicht Reaktionsgefäßaufnahmekörper 9 gezeigt, die weitere Abwandlungen der erfindungsgemäßen Vorrichtung darstellen. Bei diesen Reaktionsgefäßaufnahmekörpern 9 sind die einzelnen Segmente 8 mittels Stegen 24 aus einem wärmeisolierenden Material zu einer Einheit verbunden. Die Streben 22 sind zwischen den Seitenkanten 20 der Basisplatten 11 angeordnet und an diesen bspw. durch Kleben fixiert.

Die Segmentierung des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers aus Fig. 6 entspricht derjenigen des ersten und zweiten Ausführungsbeispiels (Fig. 1-3), wobei auf jedem Segment 8 4 x 4 Reaktionsgefäßhalter angeordnet sind.

- 5 Der in Fig. 7 gezeigte Reaktionsgefäßaufnahmekörper 9 ist aus 24 Segmenten 8 mit jeweils 4 x 4 Reaktionsgefäßhalter 12 zusammengesetzt, wobei die Segmente 8 wiederum mittels thermisch isolierender Stege 24 verbunden sind.

- 10 Bei dem in Fig. 8 gezeigten Reaktionsgefäßaufnahmekörper 9 weist jedes Segment 8 lediglich einen einzigen Reaktionsgefäßhalter 12 auf.

- 15 Bei den relativ fein untergliederten Reaktionsgefäßaufnahmekörpern 9 ist es zweckmäßig in die Thermocyclervorrichtung Temperatursensoren zu integrieren, die die Temperaturen der einzelnen Segmente abtasten, so dass nach dem von den Temperatursensoren ermittelten Temperaturwerten die Temperatur der Segmente 8 in einer geschlossenen Regelschleife geregelt wird.

- 20 Als Temperatursensoren können bspw. Infrarotsensoren verwendet werden, die z.B. im Deckel angeordnet sind. Mit dieser Sensoranordnung ist es möglich, die Temperatur des Reaktionsgemisches direkt abzutasten.

- 25 Fig. 9 zeigt einen Reaktionsgefäßaufnahmekörper 9 mit sechs in der Draufsicht rechteckigen Segmenten 8 und ein in der Form eines Doppelkreuzes aus drei sich kreuzenden Reihen von Reaktionsgefäßhaltern 12 ausgebildetes Segment 8a. Die sechs rechteckigen Segmente 8 sind jeweils eine Reihe bzw. Spalte von Reaktionsgefäßhaltern vom nächsten rechteckigen Segment beabstandet. Diese Segmentierung ist besonders vorteilhaft für den oben erläuterten dritten Betriebsmodus, da sich die rechteckförmigen Segmente 8 nicht berühren und deshalb gleichzeitig beliebig angesteuert werden können, wobei lediglich das Segment 8a in Form eines Doppelkreuzes nicht angesteuert wird.
- 30

Die Segmente 8 des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers 9 sind aus einem gut wärmeleitenden Metall, wie z.B. Aluminium, ausgebildet. Die oben als nicht-

wärmeleitenden Materialien bzw. als wärmeisolierend bezeichneten Materialien sind entweder Kunststoffe oder Keramiken.

5 Ein weiteres Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist in Fig. 11 gezeigt. Bei diesem Ausführungsbeispiel sind die einzelnen Segmente 8b des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers 9 mittels eines Spannrahmens 25 (Fig. 10) fixiert.

10 Der Spannrahmen 25 ist gitterförmig aus Längsstreben 26 und Querstreben 27 ausgebildet, wobei die Streben 26, 27 Öffnungen aufspannen. Durch diese Öffnungen erstrecken sich die Reaktionsgefäßhalter 12 der Segmente 8b. Beim vorliegenden Ausführungsbeispiel liegen die Streben 26, 27 etwa formschlüssig an den Reaktionsgefäßhaltern 12 an und auf der an den Reaktionsgefäßhaltern vorstehenden Basisplatte 11 auf. Der Spannrahmen 25 ist mit Bohrungen 28 versehen, die von Schraubbolzen 29 zum Fixieren des Spannrahmens auf einer Thermocyclervorrichtung 1 durchgriffen werden.

15

Unterhalb der Segmente 8b ist jeweils ein separat ansteuerbares Peltierelement 7 und ein sich über den Bereich aller Segmente 8b erstreckender Kühlkörper 30 angeordnet. Zwischen dem Kühlkörper 30 und dem Peltierelement 7 und zwischen
20 dem Peltierelement 7 und dem jeweiligen Segment 8b ist jeweils eine Wärmeleitfolie 31 angeordnet. Der Kühlkörper 30 ist mit Bohrungen versehen, durch die sich die Schraubbolzen 29 erstrecken, die an der vom Reaktionsgefäßaufnahmekörper 9 abgewandten Seite des Kühlkörpers 30 jeweils mit einer Mutter 32 fixiert sind.

25 Der Spannrahmen 25 ist aus einem nicht wärmeleitenden Material, insbesondere aus POM oder Polycarbonat ausgebildet. Er erlaubt somit eine Fixierung der Segmente 8b des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers 9, wobei die einzelnen Elemente zwischen den Segmenten 8b und dem Kühlkörper 30 unter Spannung stehen, so dass in vertikaler Richtung ein guter Wärmeübergang zwischen den einzelnen Elementen gewährleistet ist. Da der Spannrahmen selbst schlacht wärmeleitend ist,
30 wird die Wärmeübertragung zwischen zwei benachbarten Segmenten 8b gering gehalten. Zur weiteren Verminderung des Wärmeübergangs zwischen zwei benachbarten Segmenten können die mit den Segmenten 8b in Kontakt stehenden

Flächen des Spannrahmens 25 mit schmalen Stegen versehen sein, so dass in den an die Stege angrenzenden Bereichen Luftspalte zwischen dem Spannrahmen 25 und den Segmenten 8b ausgebildet sind.

5 Bei dem in Fig. 11 gezeigte Ausführungsbeispiel sind zwischen zwei Reihen von Reaktionsgefäßhaltern 12 ist jeweils eine sogenannte Heat-Pipe 33 eingebaut. Eine solche Heat-Pipe wird bspw. von der Firma THERMACORE INTERNATIONAL, Inc., USA vertrieben. Sie besteht aus einem gasdichten Mantel, in dem sich lediglich eine geringe Menge Fluid befindet. In der Heat-Pipe besteht ein derart
10 geringer Druck, dass sich das flüssige Fluid in einem Gleichgewichtszustand zwischen dem flüssigen und dem gasförmigen Aggregatzustand befindet und folglich an einem wärmeren Abschnitt der Heat-Pipe verdampft und an einem kühleren Abschnitt kondensiert. Hierdurch wird zwischen den einzelnen Abschnitten die Temperatur ausgeglichen. Als Fluid wird bspw. Wasser oder Freon verwendet.

15 Durch die Integration einer solchen Heat-Pipe in die Segmente 8b des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers 9 wird ein Temperatenausgleich über das Segment 8b bewerkstelligt. Hierdurch wird sichergestellt, dass auf dem gesamten Segment 8b die gleiche Temperatur vorliegt.

20 Eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Thermocyclervorrichtung 1 ist in Fig. 12 gezeigt. Diese Thermocyclervorrichtung 1 ist ähnlich wie die in Fig. 11 gezeigte ausgebildet, weshalb gleiche Teile mit gleichen Bezugszeichen bezeichnet sind.

25 Die Segmente 8c dieser Thermocyclervorrichtung 1 weisen jedoch keine Heat-Pipes auf. Anstelle von Heat-Pipes sind im Bereich unterhalb der Segmente 8c jeweils eine Temperatenausgleichsplatte 34 vorgesehen. Diese Temperatenausgleichsplatten 34 sind flächenförmige Elemente, deren Fläche der Grundfläche
30 eines der Segmente 8c entspricht. Diese Temperatenausgleichsplatten 34 sind Hohlkörper mit einer geringen Menge an Fluid und arbeiten nach dem gleichen Funktionsprinzip wie die Heat-Pipes. Hiermit wird wiederum sichergestellt, dass es innerhalb eines Segmentes 8c keine Temperaturschwankungen gibt.

- Die Temperaturlausgleichsplatte kann jedoch auch aus sehr gut wärmeleitenden Materialien, wie z.B. Kupfer, ausgebildet sein. In eine solche Temperaturlausgleichsplatte können zusätzliche Heiz- und/oder Kühlelemente, wie z.B. Heizfolien, Heizwendeln oder Peltierelemente, integriert sein. Die Heiz- und Kühlelemente unterstützen die Homogenität und erlauben schnellere Heiz- und/oder Kühlraten. Ein Peltierelement, das in der Regel keine gleichmäßige Temperaturverteilung aufweist, wird vorzugsweise mit einem flächigen Heizelement kombiniert.
- 10 Die Erfindung ist oben anhand von Ausführungsbeispielen mit 96 Ausnehmungen zum Aufnehmen einer Mikrotiterplatte mit 96 Reaktionsgefäßen beschrieben. Die Erfindung ist jedoch nicht auf diese Anzahl von Ausnehmungen beschränkt. So kann der Reaktionsgefäßaufnahmekörper bspw. auch 384 Ausnehmungen zum Aufnehmen einer entsprechenden Mikrotiterplatte besitzen. Hinsichtlich vorstehend im einzelnen nicht näher erläutelter Merkmale der Erfindung wird in übrigen ausdrücklich auf die Ansprüche und die Zeichnung verwiesen.
- 20 Bei den oben beschriebenen Ausführungsbeispielen wird eine Kühleinrichtung mit einem flüssigen Kühlmedium verwendet. Im Rahmen der Erfindung ist es auch möglich, anstelle eines flüssigen Kühlmediums auch ein gasförmiges Kühlmedium, insbesondere eine Luftkühlung zu verwenden.
- 25 Die oben beschriebenen Reaktionsgefäßaufnahmekörper sind aus einer Basisplatte mit etwa rohrförmigen Reaktionsgefäßhaltern ausgebildet. Im Rahmen der Erfindung ist es auch möglich, einen Metallblock zu verwenden, in dem Ausnehmungen zum Aufnehmen der Reaktionsgefäße der Mikrotiterplatte eingebracht sind.

Bezugszeichenliste

	1	Thermocyclervorrichtung	25	Spannrahmen
5	2	Gehäuse	26	Längsstrebe
	3	Bodenwandung	27	Querstrebe
	4	Seitenwandung	28	Bohrung
	5	Zwischenwandung	29	Schraubbolzen
	5a	Sockel	30	Kühlkörper
10	6	Wärmetauscher	31	Wärmeleitfolie
	7	Peltierelement	32	Mutter
	8	Segment	33	Heat-Pipe
	8a	Segment in der Form eines Doppelkreuzes	34	Temperaturausgleichsplatte
15	8b	Segment		
	8c	Segment		
	9	Reaktionsgefäßaufnahmekörper		
	10	Segmentteil		
	11	Basisplatte		
20	12	Reaktionsgefäßhalter		
	13	erste Steuereinrichtung		
	14	Kühlkreislauf		
	15	zweite Steuereinrichtung		
	16	zentrale Steuereinrichtung		
25	17	Deckel		
	18	Heizelement		
	19	Schaltventil		
	20	Seitenkanten		
	21	Nut		
30	22	Streben		
	23	Hakenelement		
	24	Steg		

Patentansprüche

5

1. Vorrichtung zur Durchführung chemischer oder biologischer Reaktionen, mit einem Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) zum Aufnahmen einer Mikrotiterplatte mit mehreren Reaktionsgefäßen, wobei der Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) mehrere in einem regelmäßigen Raster angeordnete Ausnehmungen zur Aufnahme der jeweiligen Reaktionsgefäße aufweist,

10

einer Heizeinrichtung (7) zum Erhitzen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9), und

einer Kühleinrichtung (6) zum Kühlen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9),
dadurch gekennzeichnet,

15

dass der Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) in mehrere Segmente (8) unterteilt ist, und die einzelnen Segmente (8) thermisch entkoppelt sind und jedem Segment (8) eine Heizeinrichtung (7) zugeordnet ist, die unabhängig voneinander ansteuerbar sind.

20

2. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass jedem Segment (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) eine Kühleinrichtung (6) zugeordnet ist, wobei die Kühleinrichtungen (6) unabhängig voneinander ansteuerbar sind.

25

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,

dass die Segmente (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) aus jeweils einer Basisplatte (11) mit einem oder mehreren rohrförmigen, dünnwandigen Reaktionsgefäßhaltern (12) ausgebildet sind, die einstückig mit der Basisplatte (11) ausgebildet sind.

30

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,

dadurch gekennzeichnet,

dass die einzelnen Segmente (8) dadurch thermisch entkoppelt sind, dass zwischen benachbarten Segmenten (8) ein Luftspalt ausgebildet ist.

5 5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,

dadurch gekennzeichnet,

dass die einzelnen Segmente (8) dadurch thermisch entkoppelt sind, dass zwischen benachbarten Segmenten (8) ein Spalt ausgebildet ist, in dem ein thermischer Isolator eingebracht ist.

10

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,

dadurch gekennzeichnet,

dass die Heizeinrichtungen jeweils ein Peltierelement (7) aufweisen, wobei jeweils einem Segment (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) ein Peltierelement (7) zugeordnet ist und die Peltierelemente (7) an die jeweiligen Segmente (8) thermisch gekoppelt sind.

15

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,

dadurch gekennzeichnet,

20 dass die Kühleinrichtungen ein Peltierelement (7) und/oder einen Wärmetauscher (6) umfassen, wobei jeweils einem Segment (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) ein Peltierelement (7) und/oder ein Wärmetauscher (6) zugeordnet sind.

20

8. Vorrichtung nach Anspruch 7,

25 **dadurch gekennzeichnet,**

dass die Wärmetauscher (6) mit Kühlkanälen versehen sind, die von einem Fluid durchströmt werden können, wobei die Fluidströmung der einzelnen Wärmetauscher (6) unabhängig voneinander gesteuert werden kann.

25

30 9. Vorrichtung nach Anspruch 8,

dadurch gekennzeichnet,

dass das Fluid eine Kühlflüssigkeit, insbesondere Wasser, ist.

30

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9,

dadurch gekennzeichnet,

dass der Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) in zumindest vier Segmente (8) unterteilt ist.

5

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10,

dadurch gekennzeichnet,

dass die einzelnen Segmente (8) jeweils die gleiche Anzahl von Ausnehmungen aufweisen.

10

12. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

dass die Segmente (8) an ihren Seitenkanten (20) nach unten weisende Haken-elemente (23) aufweisen, mit welchen sie auf Streben 22 lagern.

15

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,

dadurch gekennzeichnet,

dass jedem Segment (8) ein Temperatursensor zugeordnet ist, mit dem die Temperatur des jeweiligen Segmentes (8) erfaßt wird, wobei die Temperatur der Segmente (8) nach Maßgabe der von den einzelnen Sensoren erfaßten Temperaturen geregelt wird.

20

14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,

dadurch gekennzeichnet,

dass jedem Segment (8b, 8c) zumindest ein Temperaturnausgleichselement (33, 34) zugeordnet ist.

25

15. Steuereinrichtung zum Ansteuern der Heizeinrichtung und der Kühleinrichtung einer Vorrichtung zur Durchführung chemischer oder biologischer Reaktionen, die

nach einem der Ansprüche 1 bis 14 ausgebildet ist,

30

dadurch gekennzeichnet,

dass die Steuereinrichtung (13, 16) derart ausgebildet ist, dass die Heizeinrichtungen (7) der einzelnen Segmente (8) individuell ansteuerbar sind.

16. Steuereinrichtung nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet,

5 dass die Steuereinrichtung (15, 16) derart ausgebildet ist, dass die Kühleinrichtungen der einzelnen Segmente (8) individuell ansteuerbar sind.

17. Steuereinrichtung nach Anspruch 15 oder 16,

dadurch gekennzeichnet,

10 dass die Steuereinrichtung (13, 15, 16) in einem Betriebsmodus nur einen Teil der Segmente ansteuert, wobei die Segmente (8) Seitenkanten (20) aufweisen, und die zu einem angesteuerten Segment (8) an dessen Seitenkanten (20) benachbarten Segmente (8) nicht angesteuert werden.

18. Steuereinrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 17,

15 **dadurch gekennzeichnet,**

dass die Segmente in einem Betriebsmodus derart angesteuert werden, dass der Temperaturunterschied benachbarter Segmente (8) kleiner als eine vorbestimmte Temperaturdifferenz (ΔT) ist.

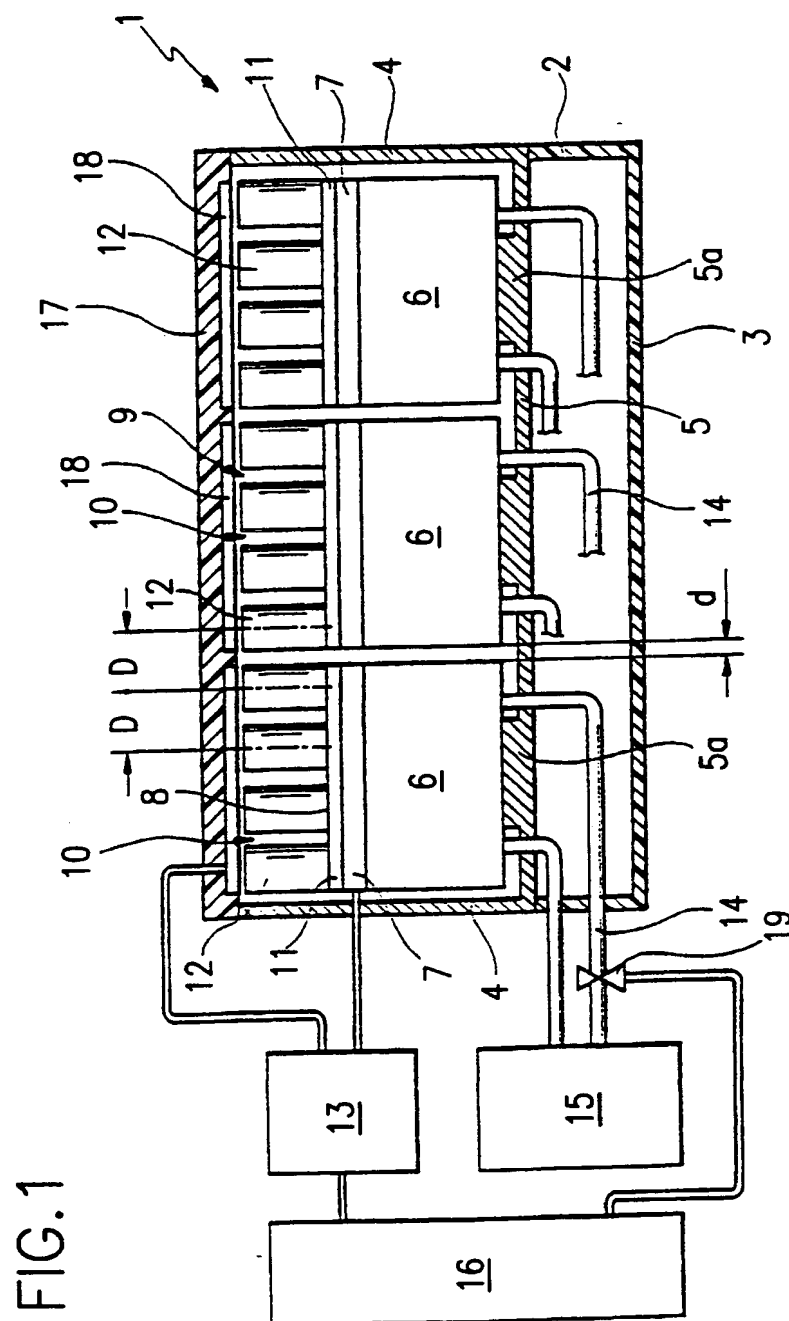


FIG. 1

2/7

FIG.2

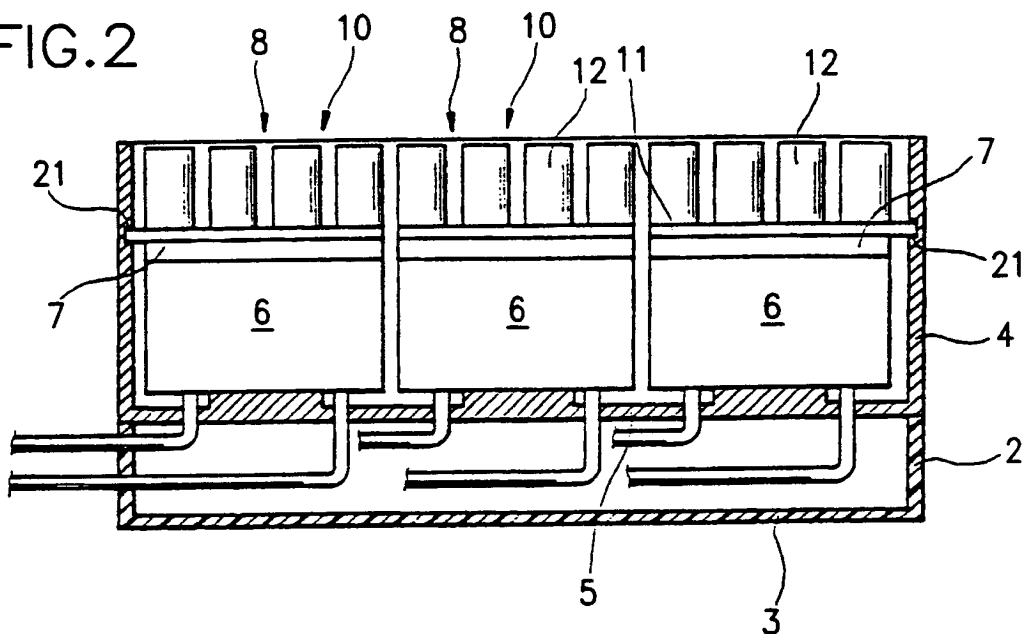


FIG.3

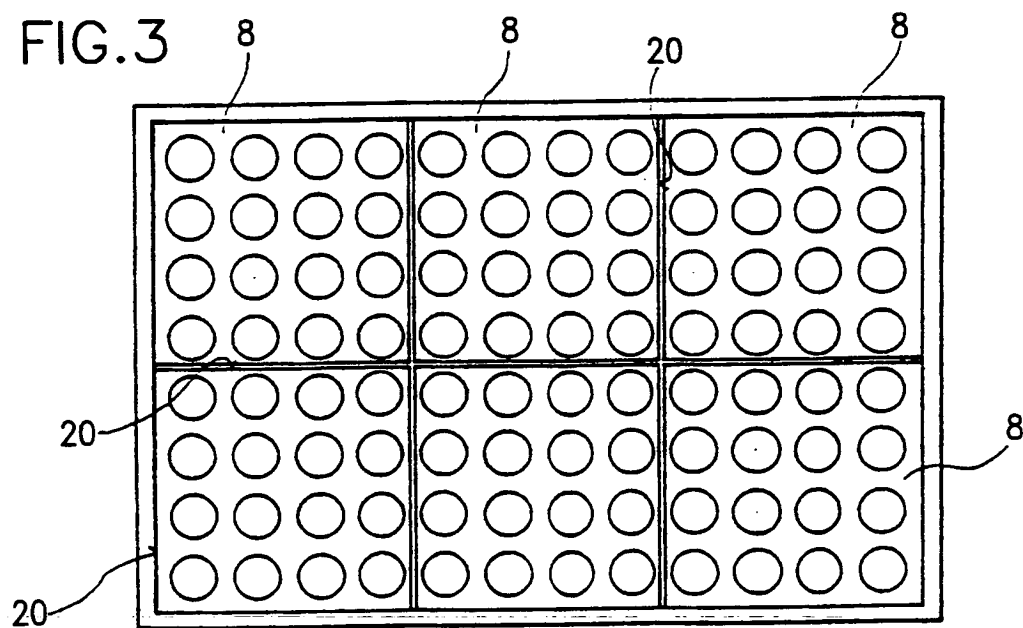


FIG.4

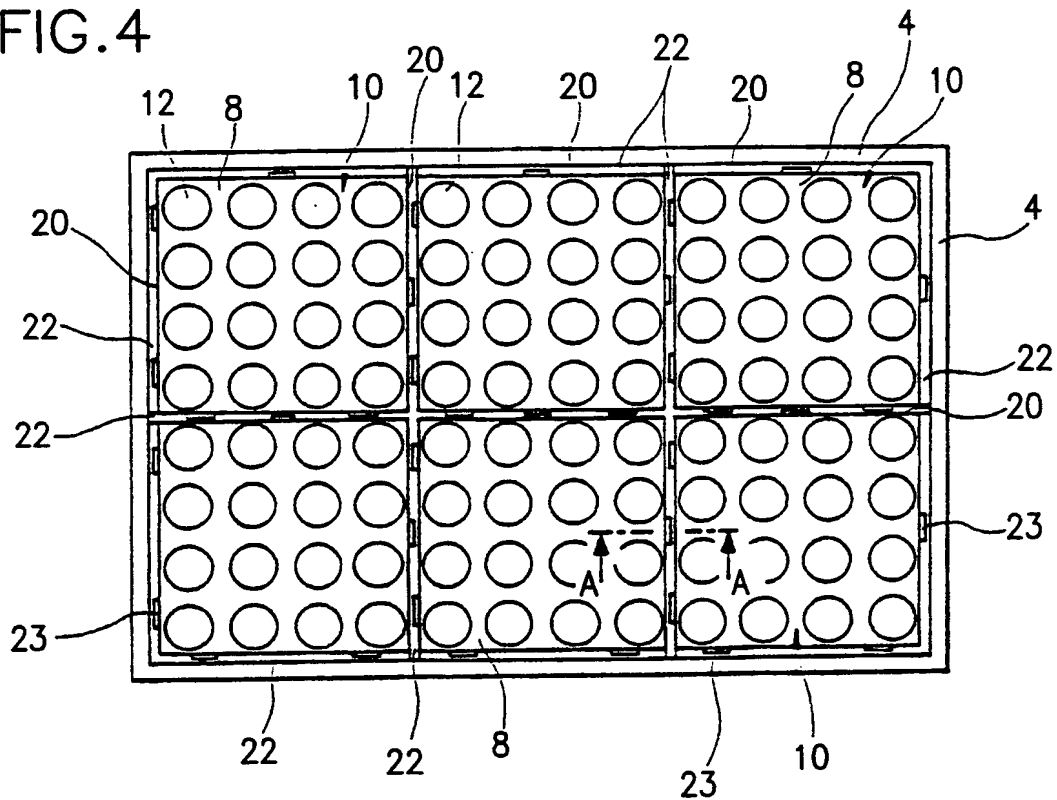
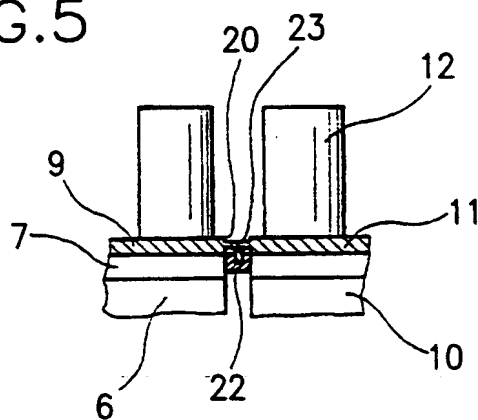


FIG.5



4/7

FIG. 6

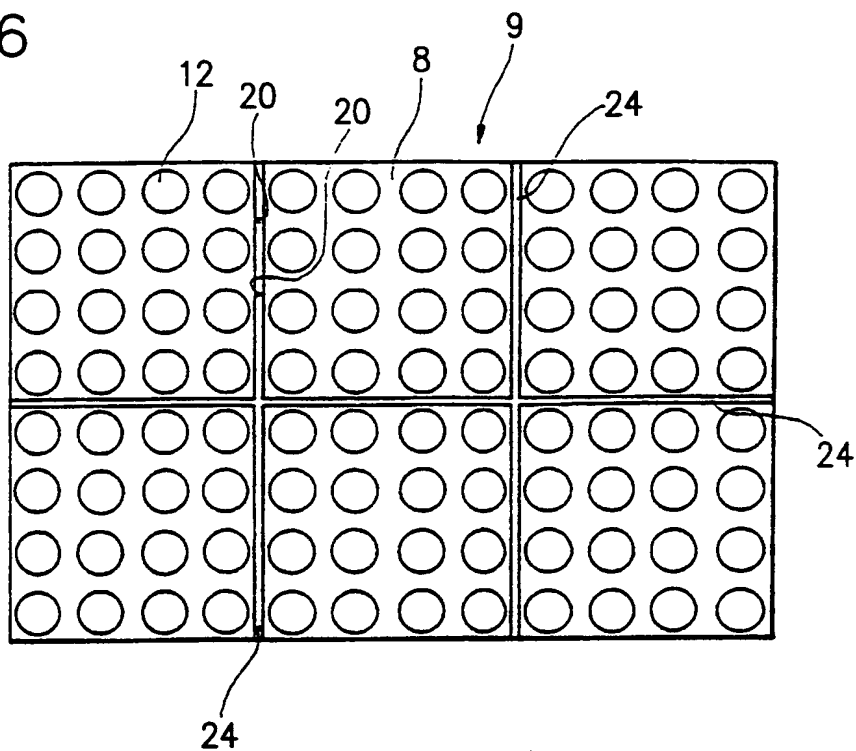


FIG. 7

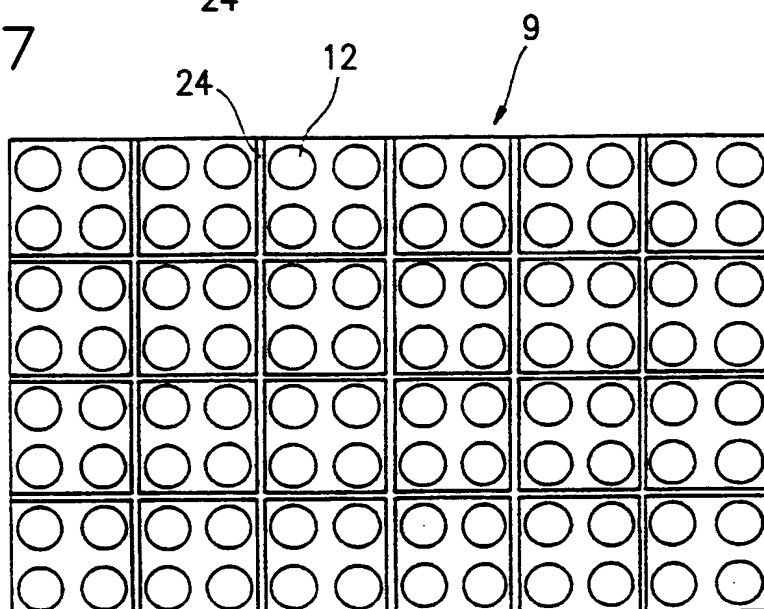


FIG.8

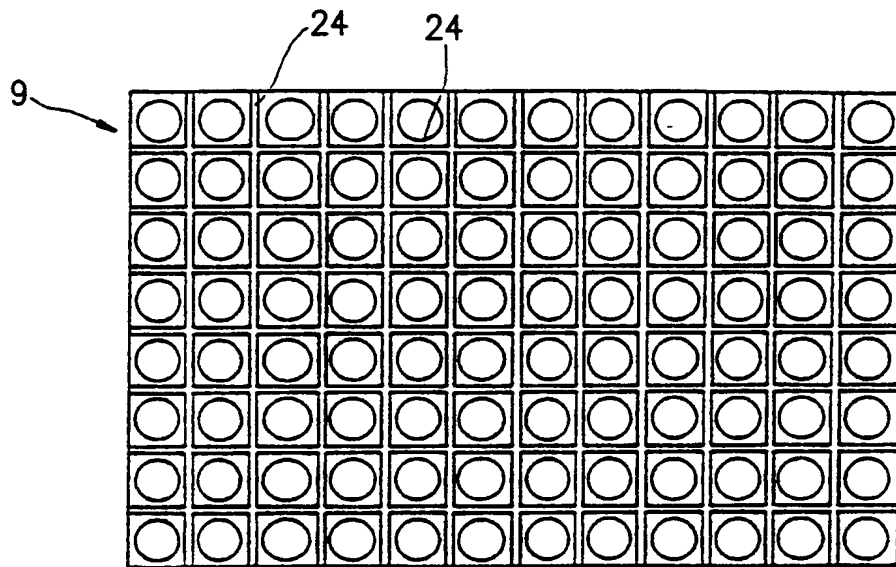


FIG.9

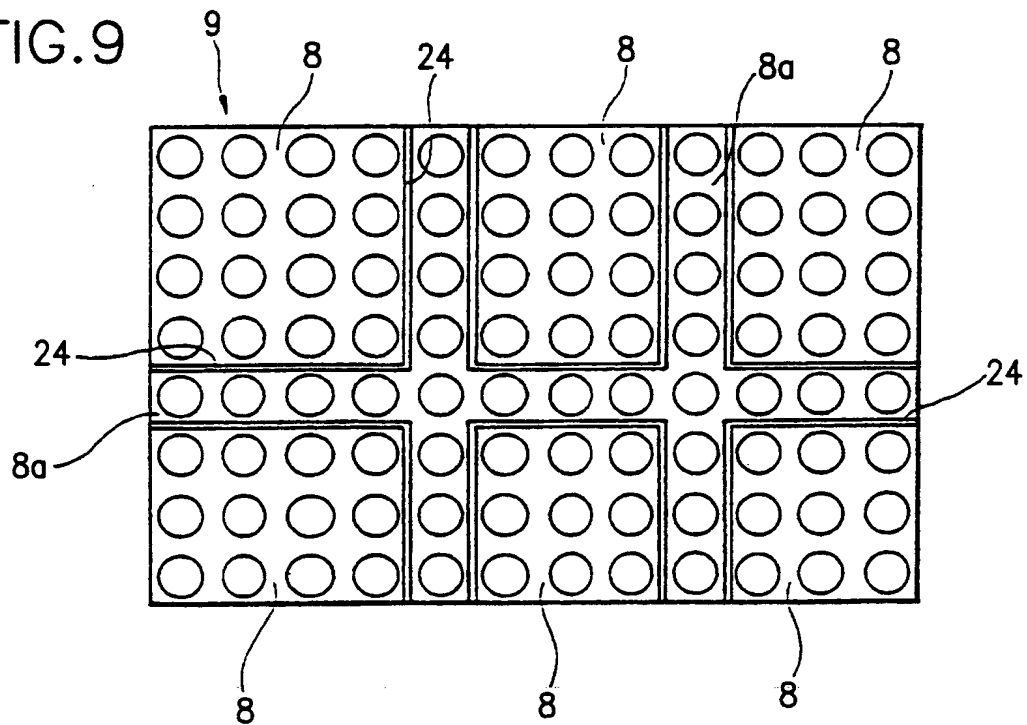


FIG. 10

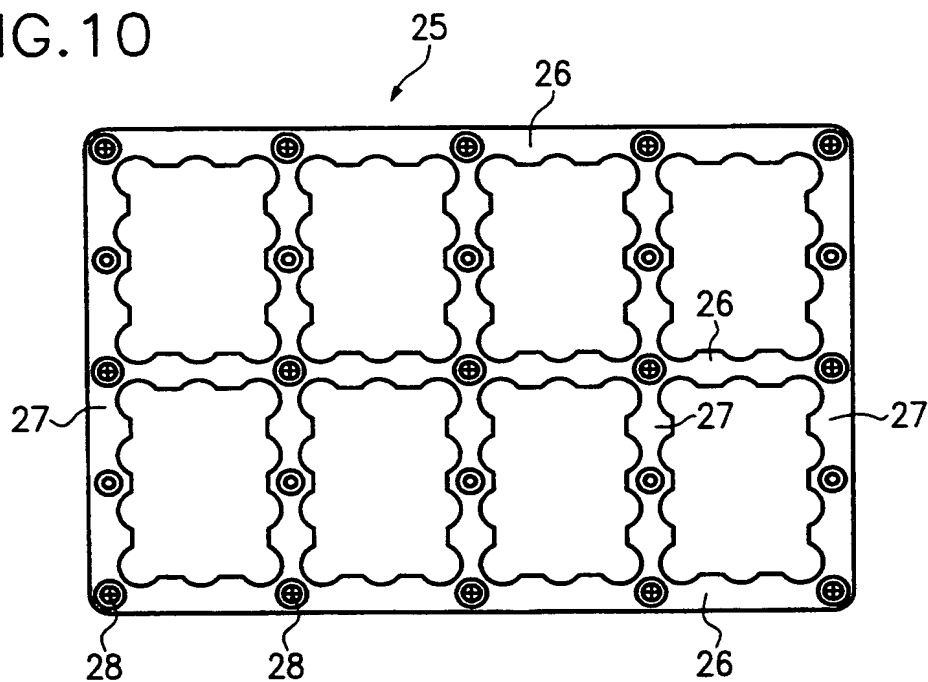


FIG. 11

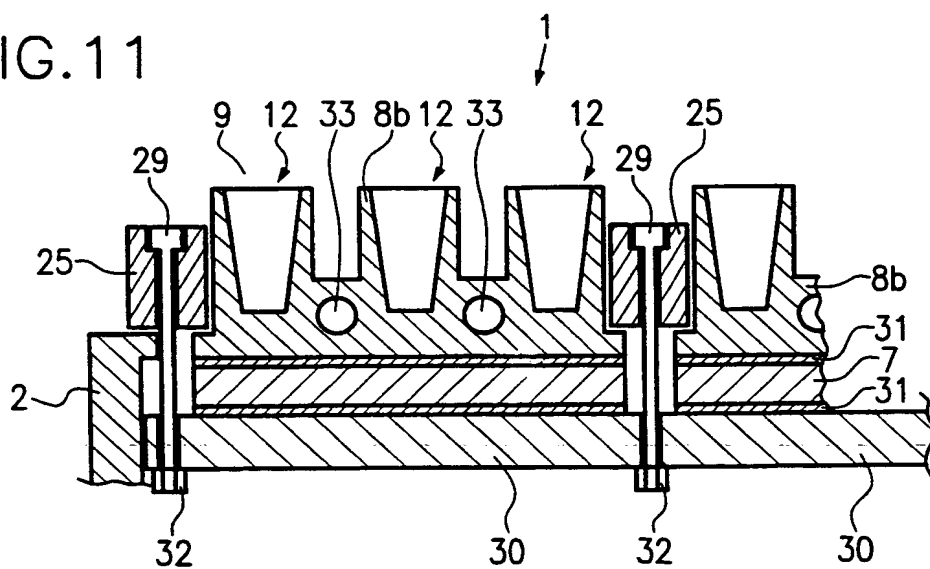
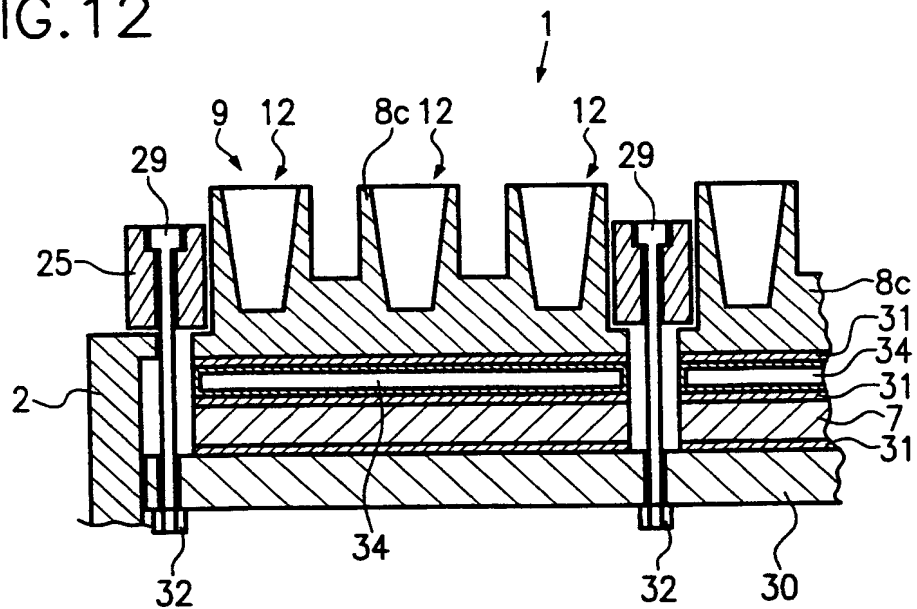




FIG.12



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/EP 00/09569

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01L3/00 B01L7/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 20975 A (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER ;LURZ WERNER (DE); BRUST RUEDIGER (D)) 22 May 1998 (1998-05-22) page 5, line 24 -page 7, line 5	1-4,6,7, 10,11, 13-18
A	page 7, paragraph 3 -page 8, paragraph 3 page 9, paragraph 5 -page 10, paragraph 1 page 10, paragraph 3 -page 11, paragraph 2 page 11, paragraph 3	12
Y	page 13, paragraph 2 -page 15, paragraph 1 page 15, paragraph 4 page 16, line 4 -page 16, line 19 figures 1-7	5,8,9
Y	--- US 5 716 842 A (BODNER ULRICH ET AL) 10 February 1998 (1998-02-10) column 1, line 4 -column 1, line 9 column 2, line 50 -column 3, line 60 figures 1,2 --- -/-	5

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 December 2000

Date of mailing of the international search report

19/12/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No

PCT/EP 00/09569

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4 950 608 A (KISHIMOTO MASARU) 21 August 1990 (1990-08-21) column 2, line 33 -column 2, line 46 column 3, line 30 -column 4, line 6 figures 1-6 -----	8,9
A	EP 0 488 769 A (PERKIN ELMER CETUS INSTR) 3 June 1992 (1992-06-03) column 7, line 3 -column 8, line 48 column 12, line 1 -column 18, line 49 figures 1-13 -----	1,3,6, 13,15-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/09569

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9820975 A	22-05-1998	DE 19646115 A DE 29623597 U EP 0881950 A JP 2000504231 T	14-05-1998 07-01-1999 09-12-1998 11-04-2000
US 5716842 A	10-02-1998	DE 4435107 C WO 9610456 A EP 0731732 A	04-04-1996 11-04-1996 18-09-1996
US 4950608 A	21-08-1990	NONE	
EP 0488769 A	03-06-1992	AT 165621 T AU 696482 B AU 2493495 A AU 662494 B AU 8832791 A AU 9700298 A CA 2056743 A, C DE 69129325 D DE 69129325 T DE 488769 T DE 812621 T DE 810030 T DK 488769 T EP 0812621 A EP 0810030 A ES 2033640 T GR 92300125 T IL 100209 A IL 111091 A IL 111092 A JP 6233670 A KR 236506 B NZ 240800 A NZ 270628 A NZ 270629 A US 5282543 A US 5710381 A US 6015534 A US 5602756 A US 5475610 A	15-05-1998 10-09-1998 07-12-1995 07-09-1995 04-06-1992 04-03-1999 30-05-1992 04-06-1998 10-09-1998 17-12-1992 13-08-1998 24-09-1998 07-10-1998 17-12-1997 03-12-1997 01-04-1993 16-03-1993 15-03-1995 31-12-1995 18-06-1996 23-08-1994 15-01-2000 26-10-1995 26-10-1995 26-10-1995 01-02-1994 20-01-1998 18-01-2000 11-02-1997 12-12-1995

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Inter nales Aktenzeichen

PCT/EP 00/09569

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01L3/00 B01L7/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 20975 A (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER ;LURZ WERNER (DE); BRUST RUEDIGER (D)) 22. Mai 1998 (1998-05-22) Seite 5, Zeile 24 -Seite 7, Zeile 5	1-4,6,7, 10,11, 13-18
A	Seite 7, Absatz 3 -Seite 8, Absatz 3 Seite 9, Absatz 5 -Seite 10, Absatz 1 Seite 10, Absatz 3 -Seite 11, Absatz 2 Seite 11, Absatz 3	12
Y	Seite 13, Absatz 2 -Seite 15, Absatz 1 Seite 15, Absatz 4 Seite 16, Zeile 4 -Seite 16, Zeile 19 Abbildungen 1-7	5,8,9
Y	US 5 716 842 A (BODNER ULRICH ET AL) 10. Februar 1998 (1998-02-10) Spalte 1, Zeile 4 -Spalte 1, Zeile 9 Spalte 2, Zeile 50 -Spalte 3, Zeile 60 Abbildungen 1,2	5
	--- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

g Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. Dezember 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

19/12/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

INTERNATIONALES RESEARCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/09569

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 4 950 608 A (KISHIMOTO MASARU) 21. August 1990 (1990-08-21) Spalte 2, Zeile 33 -Spalte 2, Zeile 46 Spalte 3, Zeile 30 -Spalte 4, Zeile 6 Abbildungen 1-6 ---	8,9
A	EP 0 488 769 A (PERKIN ELMER CETUS INSTR) 3. Juni 1992 (1992-06-03) Spalte 7, Zeile 3 -Spalte 8, Zeile 48 Spalte 12, Zeile 1 -Spalte 18, Zeile 49 Abbildungen 1-13 -----	1,3,6, 13,15-18

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 00/09569

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9820975 A	22-05-1998	DE 19646115 A	14-05-1998
		DE 29623597 U	07-01-1999
		EP 0881950 A	09-12-1998
		JP 2000504231 T	11-04-2000
US 5716842 A	10-02-1998	DE 4435107 C	04-04-1996
		WO 9610456 A	11-04-1996
		EP 0731732 A	18-09-1996
US 4950608 A	21-08-1990	KEINE	
EP 0488769 A	03-06-1992	AT 165621 T	15-05-1998
		AU 696482 B	10-09-1998
		AU 2493495 A	07-12-1995
		AU 662494 B	07-09-1995
		AU 8832791 A	04-06-1992
		AU 9700298 A	04-03-1999
		CA 2056743 A,C	30-05-1992
		DE 69129325 D	04-06-1998
		DE 69129325 T	10-09-1998
		DE 488769 T	17-12-1992
		DE 812621 T	13-08-1998
		DE 810030 T	24-09-1998
		DK 488769 T	07-10-1998
		EP 0812621 A	17-12-1997
		EP 0810030 A	03-12-1997
		ES 2033640 T	01-04-1993
		GR 92300125 T	16-03-1993
		IL 100209 A	15-03-1995
		IL 111091 A	31-12-1995
		IL 111092 A	18-06-1996
		JP 6233670 A	23-08-1994
		KR 236506 B	15-01-2000
		NZ 240800 A	26-10-1995
		NZ 270628 A	26-10-1995
		NZ 270629 A	26-10-1995
		US 5282543 A	01-02-1994
		US 5710381 A	20-01-1998
		US 6015534 A	18-01-2000
		US 5602756 A	11-02-1997
		US 5475610 A	12-12-1995

PCT/EP00/09569 amended claims filed on July 13, 2001

1

Patent Claims

1. Device for the carrying out of chemical or biological reactions with
5 a reaction vessel receiving element (9) for receiving a microtiter plate with
several reaction vessels, wherein the reaction vessel receiving element (9) has
several recesses arranged in a regular pattern to receive the respective reaction
vessels,
a heating device (7) for heating the reaction vessel receiving element (9), and
10 a cooling device (6) for cooling the reaction vessel receiving element (9),
characterised in that
a) the reaction vessel receiving element (9) is divided into several segments (8),
b) each segment (8) is assigned a heating device (7), wherein the heating
devices (7) may be actuated independently of one another,
15 c) the individual segments (8) are thermally decoupled in such a way that
different temperature levels may be set and maintained in two adjacent
segments.
2. Device according to claim 1,
20 **characterised in that**
each segment (8) of the reaction vessel receiving element (9) is assigned a
cooling device (6), wherein the cooling devices (6) may be actuated
independently of one another.
- 25 3. Device according to claim 1 or 2,
characterised in that
the segments (8) of the reaction vessel receiving element (9) are each comprised
of a base plate (11) with one or more tubular, thin-walled reaction vessel holders
(12), which form one piece together with the base plate (11).

30

4. Device according to any of claims 1 to 3,

characterised in that

the individual segments (8) are thermally decoupled by means of an air gap formed between adjacent segments (8).

5

5. Device according to any of claims 1 to 3,

characterised in that

the individual segments (8) are thermally decoupled by means of a gap, formed between adjacent segments (8), in which a thermal insulator is inserted.

10

6. Device according to any of claims 1 to 5,

characterised in that

each of the heating devices has a Peltier element (7), wherein in each case one segment (8) of the reaction vessel receiving element (9) is assigned a Peltier element (7), and the Peltier elements (7) are thermally coupled to the respective segments (8).

15

7. Device according to any of claims 1 to 6,

characterised in that

20

the cooling devices comprise a Peltier element (7) and/or a heat exchanger (6), wherein in each case one segment (8) of the reaction vessel receiving element (9) is assigned a Peltier element (7) and/or a heat exchanger (6).

8. Device according to claim 7,

25

characterised in that

the heat exchanger (6) is provided with cooling ducts through which a fluid may flow, wherein the fluidic flow of individual heat exchangers (6) may be controlled independently of one another.

30

9. Device according to claim 8,

characterised in that

that the fluid is a cooling fluid, in particular water.

10. Device according to any of claims 1 to 9,

5 **characterised in that**

the reaction vessel receiving element (9) is divided into at least four segments (8).

11. Device according to any of claims 1 to 10,

10 **characterised in that**

the individual segments (8) each have the same number of recesses.

12. Device according to any of the preceding claims,

characterised in that

15 on their side edges (20) the segments (8) have downwards-facing hook elements (23) by which they rest on ties 22.

13. Device according to any of claims 1 to 12,

characterised in that

20 each segment (8) is assigned a temperature sensor with which the temperature of the segment (8) concerned is sensed, with the temperature of the segment (8) being controlled on the basis of the temperatures sensed by the individual sensors.

25 14. Device according to any of claims 1 to 13,

characterised in that

each segment (8b, 8c) is assigned one or more temperature equalisation elements (33, 34).

30 15. Device according to any of claims 1 to 14,



characterised in that

it has a control unit to actuate the heating device and the cooling device, wherein the control unit (15, 16) is so designed that the cooling devices of the individual segments (8) may be actuated individually.

5

16. Device according to claim 15,

characterised in that

in one operating mode the control unit (13, 15, 16) actuates only a part of the segments, wherein the segments (8) have side edges (20), and the segments (8)
10 adjoining the side edges (20) of an actuated segment (8) are not actuated.

17. Device according to claim 15,

characterised in that

in one operating mode the segments are so actuated that the temperature
15 difference between adjacent segments (8) is less than a predetermined temperature difference (ΔT).

PCT/EP 00/09569

filed on March 15, 2001

4

With increasing automation in biotechnology, thermocyclers are increasingly being used in automated production lines and with robots as one of several work stations. Here it is customary for the samples to be passed in microtiter plates from one work station to the next. If the device according to US 5,819,842 were to be used in such an automated production process, it would be necessary for the samples to be pipetted out of a microtiter plate into the specially designed sample plate before temperature adjustment, and from the sample plate into a microtiter plate after temperature adjustment. Here there is a risk of contamination of the samples. The use of this specially designed sample plate must therefore be regarded as extremely disadvantageous.

WO 98/20975 describes a thermocycler divided into four segments which may be actuated separately from one another. If the individual fields are actuated differently, then temperature gradients occur over wide areas of the thermocycler.

US 5,716,842 relates to a miniaturised thermocycling device with a meandering reaction chamber. In this case, individual sections of the reaction chamber are set to different temperatures so that, when the reaction fluid flows through the reaction chamber, the reaction fluid is subjected to varying temperatures depending on the location and follows a predetermined temperature profile. This temperature profile is set so that the reaction fluid performs a PCR reaction.

US 4,950,608 shows a thermocycling device with a temperature control block in which heat pipes are integrated so as to ensure the most even temperature distribution possible – here in the vertical direction. These heat pipes correspond to the heat pipes described on page 13 of the present patent application, which serve as a temperature equalisation element. Provided on the underside of this temperature control block are heating elements and a cooling chamber, by means of which the temperature control block may be suitably heated or cooled.

EP 0 488 769 A2 shows a thermocycling device in which the temperature control zone is divided into a central zone and outer zones, wherein the outer zones may be actuated independently of the central zone. The outer zones are generally actuated with greater heating power than the central zone, in order to compensate for the greater heat outflow in the area of the outer zones. This provides for a uniform temperature setting over the whole temperature control zone.

The invention is based on the problem of developing the device described above in such a way that the disadvantages described above are avoided and the parameters of the PCR process may be optimised with great flexibility.

To solve this problem the invention has the features specified in claim 1. Advantageous developments thereof are set out in the additional claims.

The invention is characterised by the fact that the reaction vessel receiving element is divided into several segments, with the individual segments thermally decoupled and each segment assigned a heating device which may be actuated independently.

By this means the individual segments of the device may be set to different temperatures independently of one another. This makes it possible not only to set different temperature levels in the segments, but also for them to be held for varying lengths of time or altered at different rates of change. The device according to the invention thus permits optimisation of all physical parameters critical for a PCR process, while the optimisation process may be carried out on a single reaction vessel receiving element in which a microtiter plate may be inserted.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts W0-2559	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 09569	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/09/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 01/10/1999
Anmelder MWG-BIOTECH AG		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 2, 3

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☒ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

F Id III

WORTLAUT DER ZUSAMMENFASSUNG (Fortsetzung v n Punkt 5 auf Blatt 1)

Die Zusammenfassung wurde wie folgt geändert
Löschen von Zeile 12 "Durch" bis Zeile 16 "werden" das Ende von text.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PC 00/09569

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01L3/00 B01L7/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 20975 A (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER ;LURZ WERNER (DE); BRUST RUEDIGER (D)) 22. Mai 1998 (1998-05-22) Seite 5, Zeile 24 -Seite 7, Zeile 5	1-4,6,7, 10,11, 13-18
A	Seite 7, Absatz 3 -Seite 8, Absatz 3 Seite 9, Absatz 5 -Seite 10, Absatz 1 Seite 10, Absatz 3 -Seite 11, Absatz 2 Seite 11, Absatz 3	12
Y	Seite 13, Absatz 2 -Seite 15, Absatz 1 Seite 15, Absatz 4 Seite 16, Zeile 4 -Seite 16, Zeile 19 Abbildungen 1-7	5,8,9
Y	US 5 716 842 A (BODNER ULRICH ET AL) 10. Februar 1998 (1998-02-10) Spalte 1, Zeile 4 -Spalte 1, Zeile 9 Spalte 2, Zeile 50 -Spalte 3, Zeile 60 Abbildungen 1,2	5
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. Dezember 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

19/12/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PC 00/09569

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 4 950 608 A (KISHIMOTO MASARU) 21. August 1990 (1990-08-21) Spalte 2, Zeile 33 -Spalte 2, Zeile 46 Spalte 3, Zeile 30 -Spalte 4, Zeile 6 Abbildungen 1-6	8,9
A	EP 0 488 769 A (PERKIN ELMER CETUS INSTR) 3. Juni 1992 (1992-06-03) Spalte 7, Zeile 3 -Spalte 8, Zeile 48 Spalte 12, Zeile 1 -Spalte 18, Zeile 49 Abbildungen 1-13	1,3,6, 13,15-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT 00/09569

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9820975	A	22-05-1998	DE 19646115 A DE 29623597 U EP 0881950 A JP 2000504231 T	14-05-1998 07-01-1999 09-12-1998 11-04-2000
US 5716842	A	10-02-1998	DE 4435107 C WO 9610456 A EP 0731732 A	04-04-1996 11-04-1996 18-09-1996
US 4950608	A	21-08-1990	NONE	
EP 0488769	A	03-06-1992	AT 165621 T AU 696482 B AU 2493495 A AU 662494 B AU 8832791 A AU 9700298 A CA 2056743 A,C DE 69129325 D DE 69129325 T DE 488769 T DE 812621 T DE 810030 T DK 488769 T EP 0812621 A EP 0810030 A ES 2033640 T GR 92300125 T IL 100209 A IL 111091 A IL 111092 A JP 6233670 A KR 236506 B NZ 240800 A NZ 270628 A NZ 270629 A US 5282543 A US 5710381 A US 6015534 A US 5602756 A US 5475610 A	15-05-1998 10-09-1998 07-12-1995 07-09-1995 04-06-1992 04-03-1999 30-05-1992 04-06-1998 10-09-1998 17-12-1992 13-08-1998 24-09-1998 07-10-1998 17-12-1997 03-12-1997 01-04-1993 16-03-1993 15-03-1995 31-12-1995 18-06-1996 23-08-1994 15-01-2000 26-10-1995 26-10-1995 26-10-1995 01-02-1994 20-01-1998 18-01-2000 11-02-1997 12-12-1995

VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 01 AUG 2001

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts WO-2559	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/09569	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/09/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 01/10/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK)-oder nationale Klassifikation und IPK B01L3/00		
Anmelder MWG-BIOTECH AG et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 6 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 15/03/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 30.07.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Sembritzki, T Tel. Nr. +49 89 2399 8626 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-3,5-16 ursprüngliche Fassung

4,4a eingegangen am 15/03/2001 mit Schreiben vom 15/03/2001

Patentansprüche, Nr.:

1-17 eingegangen am 13/07/2001 mit Schreiben vom 12/07/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/8-8/8 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/09569

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

Es wird auf das folgende Dokument verwiesen:

D1: WO 98 20975 A (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER ;LURZ WERNER (DE); BRUST RUEDIGER (D)) 22. Mai 1998 (1998-05-22)

Punkt V:

1. Neuheit

Dokument D1, welches als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart eine Vorrichtung zur Durchführung biologischer Reaktionen mit einem in mehrere Segmente aufgeteilten Reaktionsgefäßaufnahmekörper, wobei jedem dieser Segmente eine Heizeinrichtung zugeordnet ist, die unabhängig voneinander ansteuerbar sind. Der Gegenstand von Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung unterscheidet sich von D1 darin, daß die einzelnen Segmente derart thermisch entkoppelt sind, daß auf zwei benachbarten Segmenten unterschiedliche Temperaturniveaus einstellbar sind und gehalten werden können. Der Gegenstand von Anspruch 1 ist somit neu (Artikel 33(2) PCT).

2. Erfinderische Tätigkeit

- 2.1 Die Bereiche zwischen den Segmenten in D1 bewirken eine Behinderung des Wärmestroms von einem Segment zum nächsten, was dazu genutzt wird, um einen Temperaturgradienten über mehrere Segmente und in unterschiedliche Richtungen zu erzeugen. Im Gegensatz dazu handelt es sich im vorliegenden Fall um eine vollständige thermische Entkopplung der einzelnen Segmente, wodurch in verschiedenen Segmenten unterschiedliche Temperaturniveaus eingestellt werden können. Aufgabe der vorliegenden Anmeldung ist nicht, bestimmte Temperaturverläufe zu erzielen, sondern bestimmte Felder innerhalb einer Mikrotiterplatte und die darin befindlichen Reaktionsgefäße mit unterschiedlichen, aber definierten Temperaturen zu beaufschlagen. Die in Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung für diese Aufgabe vorgeschlagene Lösung ist aus dem zur Verfügung stehenden Stand der Technik weder bekannt, noch wird sie durch ihn nahegelegt (Artikel 33(3) PCT).

- 2.2 Die Ansprüche 2-17 sind von Anspruch 1 abhängig und erfüllen damit ebenfalls die Erfordernisse des PCT in bezug auf Neuheit und erfinderische Tätigkeit.

3. Industrielle Anwendung

Die industrielle Anwendbarkeit ist offensichtlich.

Punkt VII:

Weitere Mängel

1. Der Anspruch 1 ist zwar in der zweiteiligen Form abgefaßt; die Merkmale a) und b) sind aber unrichtigerweise im kennzeichnenden Teil aufgeführt, da sie im Dokument D1 in Verbindung mit den im Oberbegriff genannten Merkmalen offenbart wurden (Regel 6.3 b) PCT).
2. Anstelle von "zum Aufnahmen" müßte es in Zeile 2 des ersten Anspruches "zum Aufnehmen" heißen.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Durchführung chemischer oder biologischer Reaktionen, mit einem Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) zum Aufnehmen einer Mikrotiterplatte mit mehreren Reaktionsgefäßen, wobei der Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) mehrere in einem regelmäßigen Raster angeordnete Ausnehmungen zur Aufnahme der jeweiligen Reaktionsgefäße aufweist, einer Heizeinrichtung (7) zum Erhitzen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9), und einer Kühleinrichtung (6) zum Kühlen des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9), **dadurch gekennzeichnet**,
a) dass der Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) in mehrere Segmente (8) unterteilt ist,
b) jedem Segment (8) eine Heizeinrichtung (7) zugeordnet ist, wobei die Heizeinrichtungen (7) unabhängig voneinander ansteuerbar sind, und
c) die einzelnen Segmente (8) derart thermisch entkoppelt sind, dass auf zwei benachbarten Segmenten unterschiedliche Temperaturniveaus einstellbar sind und gehalten werden.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**,
dass jedem Segment (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) eine Kühleinrichtung (6) zugeordnet ist, wobei die Kühleinrichtungen (6) unabhängig voneinander ansteuerbar sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**,
dass die Segmente (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) aus jeweils einer Basisplatte (11) mit einem oder mehreren rohrförmigen, dünnwandigen Reaktionsgefäßhaltern (12) ausgebildet sind, die einstückig mit der Basisplatte (11) ausgebildet sind.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**,
dass die einzelnen Segmente (8) dadurch thermisch entkoppelt sind, dass zwischen benachbarten Segmenten (8) ein Luftspalt ausgebildet ist.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass die einzelnen Segmente (8) dadurch thermisch entkoppelt sind, dass zwischen benachbarten Segmenten (8) ein Spalt ausgebildet ist, in dem ein thermischer Isolator eingebracht ist.
6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Heizeinrichtungen jeweils ein Peltierelement (7) aufweisen, wobei jeweils einem Segment (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) ein Peltierelement (7) zugeordnet ist und die Peltierelemente (7) an die jeweiligen Segmente (8) thermisch gekoppelt sind.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Kühleinrichtungen ein Peltierelement (7) und/oder einen Wärmetauscher (6) umfassen, wobei jeweils einem Segment (8) des Reaktionsgefäßaufnahmekörpers (9) ein Peltierelement (7) und/oder ein Wärmetauscher (6) zugeordnet sind.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Wärmetauscher (6) mit Kühlkanälen versehen sind, die von einem Fluid durchströmt werden können, wobei die Fluidströmung der einzelnen Wärmetauscher (6) unabhängig voneinander gesteuert werden kann.
9. Vorrichtung nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Fluid eine Kühlflüssigkeit, insbesondere Wasser, ist.
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Reaktionsgefäßaufnahmekörper (9) in zumindest vier Segmente (8) unterteilt ist.
11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet,

dass die einzelnen Segmente (8) jeweils die gleiche Anzahl von Ausnehmungen aufweisen.

12. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,

dass die Segmente (8) an ihren Seitenkanten (20) nach unten weisende Hakenelemente (23) aufweisen, mit welchen sie auf Streben 22 lagern.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,
dadurch gekennzeichnet,

dass jedem Segment (8) ein Temperatursensor zugeordnet ist, mit dem die Temperatur des jeweiligen Segmentes (8) erfaßt wird, wobei die Temperatur der Segmente (8) nach Maßgabe der von den einzelnen Sensoren erfaßten Temperaturen geregelt wird.

14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,

dass jedem Segment (8b, 8c) zumindest ein Temperaturnausgleichselement (33, 34) zugeordnet ist.

15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet,

dass sie eine Steuereinrichtung zum Ansteuern der Heizeinrichtung und der Kühleinrichtung aufweist, wobei

die Steuereinrichtung (15, 16) derart ausgebildet ist, dass die Kühleinrichtungen der einzelnen Segmente (8) individuell ansteuerbar sind.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet,

dass die Steuereinrichtung (13, 15, 16) in einem Betriebsmodus nur einen Teil der Segmente ansteuert, wobei die Segmente (8) Seitenkanten (20) aufweisen, und die zu einem angesteuerten Segment (8) an dessen Seitenkanten (20) benachbarten Segmente (8) nicht angesteuert werden.

17. Vorrichtung nach Anspruch 15 oder 16,

dadurch gekennzeichnet,

dass die Segmente in einem Betriebsmodus derart angesteuert werden, dass der Temperaturunterschied benachbarter Segmente (8) kleiner als eine vorbestimmte Temperaturdifferenz (ΔT) ist.



tung entsprechend beschränkt ist, wenn nur ein Teil der Reaktionsgefäße der Mikrotiterplatte benutzt werden.

5 Aus der US 5,819,842 geht eine Vorrichtung zum individuellen, kontrollierten Be-
heizen mehrerer Proben hervor. Diese Vorrichtung weist mehrere flächig ausgebil-
dete Heizelemente auf, die rasterartig an einer Arbeitsoberfläche angeordnet sind.
Unterhalb der Heizelemente ist eine Kühleinrichtung ausgebildet, die sich über alle
Heizelemente erstreckt. Im Betrieb wird eine besonders ausgestaltete Proben-
10 platte auf die Arbeitsoberfläche aufgesetzt. Diese Probenplatte weist eine Gitter-
platte auf, die an der Unterseite mit einer Folie bespannt ist. In den Ausnahmen
der Gitterplatte werden die Proben eingebracht. Die Proben liegen bei dieser
Vorrichtung lediglich durch die Folie getrennt auf den einzelnen Heizelementen
auf. Hierdurch wird ein unmittelbarer Wärmeübergang erzielt. Jedoch ist bei dieser
15 Vorrichtung nachteilig, dass keine handelsübliche Mikrotiterplatte verwendet wer-
den kann.

Mit der zunehmenden Automatisierung in der Biotechnologie werden Thermocycler
zunehmend in automatisch arbeitenden Fertigungslinien und Robotern als einer
von mehreren Arbeitsplätzen eingesetzt. Hierbei ist es üblich, dass die Proben in
20 Mikrotiterplatten gefüllt von einem Arbeitsplatz zum nächsten weitergereicht wer-
den. Würde in einem solchen automatisch arbeitenden Fertigungsprozess die Vor-
richtung gemäß der US 5,819,842 eingesetzt werden, so müssten die Proben vor
der Temperierung aus einer Mikrotiterplatte in die besonders ausgebildete Proben-
platte und nach der Temperierung aus der Probenplatte in eine Mikrotiterplatte
25 pipettiert werden. Hierbei besteht die Gefahr einer Kontamination der Proben. Die
Verwendung dieser besonders ausgebildeten Probenplatte muss deshalb als äu-
ßerst nachteilig angesehen werden.

Die WO 98/20975 beschreibt einen Thermocycler, der in vier Segmente unterteilt
30 ist, die separat voneinander ansteuerbar sind. Werden die einzelnen Felder unter-
schiedlich angesteuert, so stellen sich Temperaturgradienten über weite Bereiche
des Thermocyclers ein.

4a

Die US 5,716,842 betrifft eine miniaturisierte Thermocyclervorrichtung mit einer meanderförmig verlaufend ausgebildeten Reaktionskammer. Einzelne Abschnitte der Reaktionskammer werden hierbei auf unterschiedliche Temperaturen eingestellt, so dass beim Durchströmen der Reaktionsflüssigkeit durch die Reaktions-

5 kammer die Reaktionsflüssigkeit in Abhängigkeit vom Ort unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt ist und ein vorbestimmtes Temperaturprofil abfährt. Dieses Temperaturprofil wird derart eingestellt, dass die Reaktionsflüssigkeit eine PCR-Reaktion ausführt.

10 Die US 4,950,608 zeigt eine Thermocyclervorrichtung, die einen Temperierblock 12 aufweist, in dem Heat-Pipes integriert sind, um eine möglichst gleichmäßige Temperaturverteilung – hier in vertikaler Richtung – zu gewährleisten. Diese Heat-Pipes entsprechen den in der vorliegenden Patentanmeldung auf Seite beschriebenen Heat-Pipes, die als Temperatenausgleichselement dienen. An der Unter-

15 seite dieses Temperierblockes sind Heizelemente und eine Kühlkammer vorgesehen, mit welchem der Temperierblock entsprechend erwärmt oder gekühlt werden kann.

Die EP 0 488 769 A2 zeigt eine Thermocyclervorrichtung, bei welcher der temperierbare Bereich in einen zentralen Bereich und in Randbereiche unterteilt ist, wobei die Randbereiche unabhängig vom zentralen Bereich ansteuerbar sind. Die Randbereiche werden in der Regel mit größerer Heizleistung als der zentrale Bereich angesteuert, um damit den größeren Wärmeabfluss im Bereich der Randbereiche auszugleichen. Dies dient zur gleichmäßigen Temperatureinstellung über

20

25 den gesamten temperierbaren Bereich.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die eingangs genannte Vorrichtung derart weiterzubilden, dass die oben beschriebenen Nachteile vermieden werden und die Parameter des PCR-Verfahrens sehr flexibel optimiert werden können.

30

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference WO-2559	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/09569	International filing date (<i>day/month/year</i>) 29 September 2000 (29.09.00)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 01 October 1999 (01.10.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B01L 3/00		
Applicant MWG-BIOTECH AG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 6 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 15 March 2001 (15.03.01)	Date of completion of this report 30 July 2001 (30.07.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



1
2
3

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/09569

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages 1-3,5-16, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages 4,4a, filed with the letter of 15 March 2001 (15.03.2001),
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the claims, Nos. _____, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1-17, filed with the letter of 12 July 2001 (12.07.2001),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the drawings, sheets/fig 1/8-8/8, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/09569

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

This report makes reference to the following documents:

D1: WO-A-98/20975 (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER; LURZ WERNER (DE); BRUST RUEDIGER (D)) 22 May 1998 (1998-05-22).

1. Novelty

Document D1 is considered to be the closest prior art and discloses a device for conducting biological reactions comprising a reaction vessel container unit which is divided into a plurality of segments, where each of these segments is assigned a heating device which can be controlled independently. The subject matter of Claim 1 in the present application differs from D1 in that the individual segments are thermally isolated in such a way that different temperature levels can be set and maintained for two adjacent segments. The subject matter of Claim 1 is therefore novel; PCT Article 33(2).

2. Inventive step



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/09569

- 2.1 The effect of the areas between the segments in D1 is to impede the heat flow from one segment to the next, so that a temperature gradient can be produced over a plurality of segments and in different directions. In contrast, the present application describes complete thermal isolation of the individual segments, so that different temperatures can be set for different segments. The problem addressed by the present application is not to achieve specific temperature sequences, but to apply different yet defined temperatures to specific areas within a microtitration plate and the reaction vessels contained therein. The solution to this problem as proposed in Claim 1 of the present application is neither known nor suggested by the available prior art; PCT Article 33(3).
- 2.2 Claims 2-17 are dependent on Claim 1 and therefore likewise satisfy the PCT requirements for novelty and inventive step.
3. **Industrial applicability**
- The invention is clearly industrially applicable.



1
2
3

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/09569

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Although Claim 1 is in the proper two-part form, the features a) and b) should not have been included in the characterising part of the claim, since they were disclosed in D1 in conjunction with the features defined in the preamble; PCT Rule 6.3(b).
2. There is a spelling mistake in Claim 1, line 2: "zum Aufnahmen" should be replaced with "zum Aufnehmen".



10

11